

# EUROPEAN PATENT OFFICE

## Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 2002322197  
PUBLICATION DATE : 08-11-02

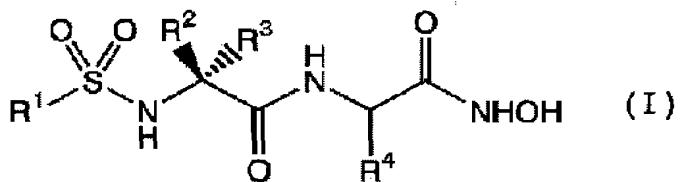
APPLICATION DATE : 24-04-01  
APPLICATION NUMBER : 2001125618

APPLICANT : SENJU PHARMACEUT CO LTD;

INVENTOR : NAKAMURA MASAYUKI;

INT.CL. : C07K 5/062 A61K 38/00 A61P 31/04  
A61P 43/00 C12N 9/99

TITLE : PEPTIDYL HYDROXAMIC ACID  
DERIVATIVE AND ITS USE



ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a peptidyl hydroxamic acid derivative having potent PDF inhibition action and antibacterial action.

SOLUTION: Peptide deformylase inhibitor and an antibacterial agent containing a compound represented by formula (I) (wherein R<sup>1</sup> is a (substituted) 6-10C aryl group, R<sup>2</sup> and R<sup>3</sup> are the same or different and show hydrogen or a 1-4C alkyl group, and R<sup>4</sup> is a 1-5C alkyl group) or the salts are provided.

COPYRIGHT: (C)2003,JPO

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-322197

(P2002-322197A)

(43) 公開日 平成14年11月8日 (2002.11.8)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>  
C 07K 5/062  
A 61K 38/00  
A 61P 31/04  
43/00  
C 12N 9/99

識別記号  
C 07K 5/062  
A 61P 31/04  
43/00  
C 12N 9/99

F I  
C 07K 5/062  
A 61P 31/04  
43/00  
C 12N 9/99  
A 61K 37/02

テマコト<sup>\*</sup> (参考)  
4 C 084  
4 H 045  
1 1 1

審査請求 未請求 請求項の数 7 OL (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2001-125618(P2001-125618)

(71) 出願人 000199175

千寿製薬株式会社

大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号

(22) 出願日 平成13年4月24日 (2001.4.24)

(72) 発明者 崔 応涉

兵庫県神戸市須磨区白川台6丁目4番地の  
8 608号

(72) 発明者 井上 淳

兵庫県神戸市須磨区白川字不計1番地の6  
603号

(72) 発明者 中村 雅之

兵庫県神戸市北区泉台3丁目16番地の10

(74) 代理人 100118360

弁理士 松田 玲子

最終頁に統ぐ

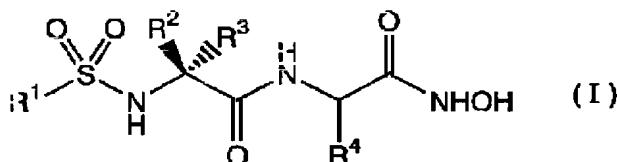
(54) 【発明の名称】 ペプチジルヒドロキサム誘導体およびその用途

(57) 【要約】

【課題】 強力なP D F阻害作用および抗菌作用を有するペプチジルヒドロキサム誘導体を提供することである。

【解決手段】 式 (I)

【化1】

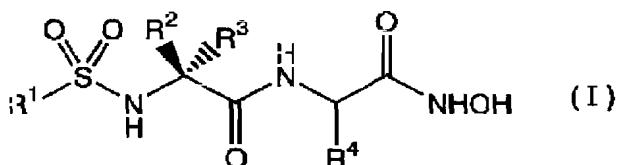


〔式中、R<sup>1</sup>は置換されていてもよい炭素数6～10のアリール基を示し、R<sup>2</sup>とR<sup>3</sup>は同一または異なって、水素または炭素数1～4のアルキル基を示し、R<sup>4</sup>は炭素数1～5のアルキル基を示す。〕で表わされる化合物またはその塩を含有するペプチドデホルミラーゼ阻害剤および抗菌剤。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式 (I)

【化1】



〔式中、R<sup>1</sup> は置換されていてもよい炭素数6～10のアリール基を示し、R<sup>2</sup> とR<sup>3</sup> は同一または異なって、水素または炭素数1～4のアルキル基を示し、R<sup>4</sup> は炭素数1～5のアルキル基を示す。〕で表わされる化合物またはその塩。

【請求項2】 R<sup>1</sup> がハロゲン原子で置換されているフェニル基である請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項3】 R<sup>1</sup> が4-フルオロフェニル基である請求項2記載の化合物またはその塩。

【請求項4】 R<sup>2</sup> がイソブロビル、R<sup>3</sup> が水素、R<sup>4</sup> がイソブチルである請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項5】 請求項1記載の化合物またはその塩を含有する医薬。

【請求項6】 ペプチドデホルミラーゼ阻害剤である請求項5記載の医薬。

【請求項7】 抗菌剤である請求項5記載の医薬。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、ペプチドデホルミラーゼ阻害活性および抗菌活性を有する新規なペプチジルヒドロキサム酸誘導体およびその誘導体を有効成分とする医薬に関する。

【0002】

【従来の技術】 次々と出現する薬剤耐性菌に対して抗菌力を発揮するために、今までにない新たな作用機序を有する化合物が求められている。原核生物におけるタンパク質合成は、メチオニルtRNAのホルミル化から始まり、N-末にホルミル基を有するポリペプチドが最初に合成される (Meinnel, T., Mechulam, Y., Blanquet, S., Biochimie, 75, 1161-75 (1993))。ペプチドデホルミラーゼ (以下、PDFと記載することもある。) は、このポリペプチドからN-末のホルミル基を切断する酵素で、機能を持ったタンパク質とする酵素であるため、原核生物の生育には不可欠な酵素である (Adams, J.M., J. Mol. Biol., 33, 571-89 (1968), Livingston, D.M., Leder, P., Biochemistry, 8, 435-43 (1968), Takeda, M., Webster, R.E., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 60, 1487-94 (1968))。一方、ヒトなどの真核生物のタンパク質合成は、ペプチドのホルミル化一

脱ホルミル化を必要としないので、PDFを有しない、このため、細菌などの原核生物にのみ存在するPDFの阻害は抗菌剤開発の魅力的なターゲットである。PDFは活性部位に鉄を有するメタロプロテアーゼであり、その不安定さゆえ精製が困難で阻害剤を探索するための活性測定ができなかった。しかし、近年の分子生物学の進歩によりPDFが単離精製され、その阻害剤の開発が始まった (Rajagopalan, P.T.R., Yu, X.C., Pei, D., J. Am. Chem. Soc., 119, 12418-9 (1997), Rajagopalan, P.T.R., Datta, A., Pei, D., Biochemistry, 36, 13910-8 (1997), Becker, A., Schlichting, I., Kabesch, W., Shultz, S., Wagner, A.F.V., J. Biol. Chem., 273, 11413-16 (1998), Meinnel, T., Blanquet, S., Dardel, F., J. Mol. Biol., 262, 375-86 (1996), Chan, M.K., Gong, W.M., Rajagopalan, P.T.R., Hao, B., Tsai, C.M., Pei, D., Biochemistry, 36, 13904-9 (1997), Dardel, F., Ragusa, S., Lazennec, C., Blanquet, S., Meinnel, T., J. Mol. Biol., 262, 375-86 (1996))。現在までのところ報告されているPDF阻害剤としては、天然物のアクチノニン (Chen, Dawn Z.; Patel, Dinesh V.; Hackbarth, Corinne J.; Wang, Wen; Dreyer, Geoffrey; Young, Dennis C.; Margolis, Peter S.; Wu, Charlotte; Ni, Zi-Jie; Trias, J. Joaquim; White, Richard J.; Yuan, Zhengyu, Biochemistry, 39, 1256-62 (2000)) を始め、H-phosphonate誘導体 (Hu, Yun-Jin; Rajagopalan, P. T. Ravi; Pei, Dehua, Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 2479-82, (1998))、ペプチドアルデヒド誘導体 (Durand, Daniel J.; Gordon Green, Barbara; O'Connell, John F.; Grant, Stephan K., Arch. Biochem. Biophys., 367, 297-302, (1999))、ビフェニル酸誘導体 (Green, Barbara Gordon; Toney, Jeffrey H.; Kozarich, John W.; Grant, Stephan K., Arch. Biochem. Biophys., 375, 355-8, (2000))、ペプチドチオール誘導体 (Huntington, Kristi M.; Yi, Tian; Wei, Yaoming; Pei, Dehua, Biochemistry, 39, 4543-51 (2000))、ペプチドヒドロキサム酸誘導体 (WO99/57097)、スルホニルヒドロキサム酸誘導体 (Apfel, Christian; Banner, David W.; Bur, Daniel; Dietz, Michel; Hirata, Takahiro; Hubschwerlen, Christian; Locher, Hans; Page, Malcolm G. P.; Pirson, Wolfgang; Rosse, Gerard; Specklin, Jean-Luc, J. Med. Chem., 43, 2324-31 (2000))、ヒドロキシアミン誘導体 (WO 99/39704; Clements, John M.; Beckett, R. Paul; Brown, Anthony; Catlin, Graham; Lobell, Mario; Palan, Shilpa; Thomas, Wayne; Whittaker, Mark; Wood, Stephen; Salama, Sameeh; Baker, Patrick J.; Rodgers, H. Fiona; Barynin, Vladimir; Rice, David W.; Hunter, Michael G., Antimicrob. Agents Chemother., 45, 563-570 (2001)) などが挙げられるが、未だ臨床に用いられている

ものではなく、研究開発の段階である。

【0003】一方、ペプチジルヒドロキサム酸誘導体は、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤として今まで多くの報告がされている (US 4599361, US 5256657, US 5268384, US 5552419, EP 236872, EP 274453, EP 423943, EP 489577, EP 489579, EP 497192, EP 574758, WO 90/05716, WO 90/05719, WO 91/02716, WO 92/13831, WO 92/22523, WO 93/09090, WO 93/09097, WO 93/20047, WO 93/24449, WO 93/24475, WO 94/02446, WO 94/02447, WO 94/21612, WO 94/25434, WO 94/25435, WO 96/26918, WO 96/25156, WO 2000/034313, JP 08311096 等) が、PDF阻害剤としては、上述のペプチドヒドロキサム酸誘導体 (WO 99/57097) に述べられているだけである。そこで、PDF阻害活性を有する新規ペプチジルヒドロキサム酸誘導体の開発を図るべく発明者らは鋭意研究を行った。

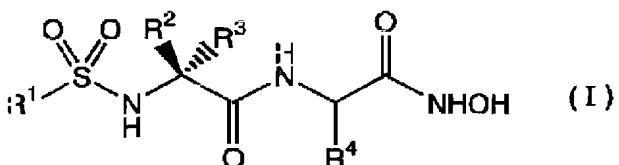
#### 【0004】

【発明が解決しようとする課題】強力なPDF阻害作用および抗菌作用を有するペプチジルヒドロキサム酸誘導体を提供することである。

#### 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、強いPDF阻害作用および抗菌作用を有する下記一般式 (I)

#### 【化2】



【0006】〔式中、R<sup>1</sup>は置換されていてもよい炭素数6～10のアリール基を示し、R<sup>2</sup>とR<sup>3</sup>は同一または異なって、水素または炭素数1～4のアルキル基を示し、R<sup>4</sup>は炭素数1～5のアルキル基を示す。〕で表わされる化合物およびその塩を創製し、さらに研究を進めて本発明を完成した。なお、本発明で使用するアミノ酸に光学異性体が存在する場合、特に明示しない限りL体を示すものとする。また、本明細書中において「低級アルキル」とは、特に明示しない限り炭素数1～5のアルキル基を意味するものとする。

#### 【発明の実施の形態】

【0007】上記式 (I) 中、R<sup>1</sup>で表される炭素数6～10のアリール基としては、たとえばフェニル、ナフチル、インデニル、アズレニルなどが挙げられる。好ましくは、フェニル、ナフチルである。アリール基が有してもよい置換基としてはハロゲン原子(フッ素、塩素など)、低級アルキル、トリフルオロメチル、炭素数1～5のアルコキシ、ヒドロキシル、炭素数2～5のアシル

オキシ、カルボキシル及び炭素数2～5のアシル基が挙げられる。好ましくはハロゲン原子および低級アルキル基である。より好ましくは、フッ素である。R<sup>2</sup>で表される置換基を有してもよい炭素数6～10のアリール基の好適な具体例としては、4-フルオロフェニルである。

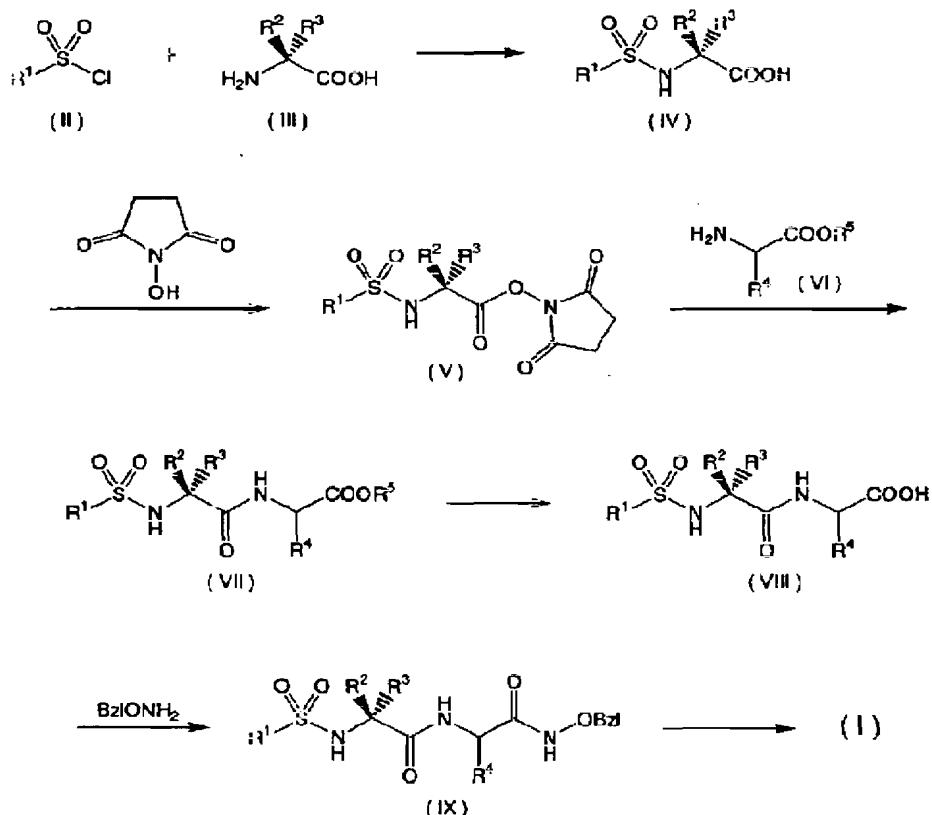
【0008】R<sup>2</sup>またはR<sup>3</sup>で表される炭素数1～4のアルキル基としては、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチルなどが挙げられる。好ましくはプロピル、イソプロピル、tert-ブチルである。より好ましくはイソプロピルである。R<sup>2</sup>とR<sup>3</sup>は、好ましくはR<sup>2</sup>またはR<sup>3</sup>の一方が水素であって、他方がプロピル、イソプロピル、イソブチルまたはtert-ブチルであり、より好ましくは、R<sup>2</sup>がプロピル、イソプロピル、イソブチルまたはtert-ブチルであって、R<sup>3</sup>が水素であり、さらに好ましくはR<sup>2</sup>がイソプロピルであって、R<sup>3</sup>が水素である。

【0009】R<sup>4</sup>で表される炭素数1～5のアルキル基としては、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチルなどが挙げられる。好ましくはイソブチルである。

【0010】本発明における一般式 (I) で表される化合物の塩としては生理学的に許容される塩が好ましく、たとえば無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などが挙げられる。無機塩基との塩の好適な例としては、たとえばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；アルミニウム塩、アンモニウム塩などが挙げられる。有機塩基との塩の好適な例としては、たとえばトリメチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩が挙げられる。無機酸との塩の好適な例としては、たとえば塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸などとの塩が挙げられる。有機酸との塩の好適な例としては、たとえばギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸などとの塩が挙げられる。塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、たとえばアルギニン、リジン、オルニチンなどとの塩が挙げられ、酸性アミノ酸との塩の好適な例としては、たとえばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩が挙げられる。

【0011】本発明の化合物は、たとえば下記の一般反応式

【化3】



【0012】〔反応式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>は上記一般式（I）で定義したのと同意義を有する。また、R<sup>5</sup>は低級アルキル基を示し、Bzはベンジル基を示す。〕により製造することができる。一般式（II）で表されるスルホニルクロリド〔以下、化合物（II）と記載することもある。〕としては、たとえばナフタレンスルホニルクロリド、トルエンスルホニルクロリド、フルオロベンゼンスルホニルクロリド、クロロベンゼンスルホニルクロリド、メタンスルホニルクロリド、プロモベンゼンスルホニルクロリド、ベンゼンスルホニルクロリドなどが挙げられる。

【0013】一般式（III）で表される化合物〔以下、化合物（III）と記載することもある。〕としては、いわゆる $\alpha$ -アミノ酸と称されるものであればいずれでもよい。特にグリシン、アラニン、バリン、D-バリン、ノルバリン、ロイシン、イソロイシン、ノルロイシン、tert-ロイシンなどが好適である。化合物（II）と化合物（III）の反応は、通常知られる方法、たとえばショッテン-バウマン（Shotten-Baumann）反応などにより行なうことができる。

【0014】一般式（IV）で表される化合物とN-ヒドロキシコハク酸イミドは、通常使用される有機溶媒（たとえば、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチルなど）に溶解し、縮合剤で縮合させる。該縮合剤としては、たとえばN、N-ジシクロヘキシルカルボジイミドまたは1-エチル-3-(3-ジメ

チルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩などが好適に使用される。一般式（VI）で表されるアミノ酸エステル〔以下、化合物（VI）と記載することもある。〕としては、たとえばグリシンメチルエステル、グリシンエチルエステル、グリシンtert-ブチルエステル、アラニンメチルエステル、アラニンエチルエステル、アラニンtert-ブチルエステル、バリンメチルエステル、バリンエチルエステル、バリンtert-ブチルエステル、ノルバリンメチルエステル、ノルバリンエチルエステル、ノルバリンtert-ブチルエステル、ロイシンメチルエステル、ロイシンエチルエステル、ロイシンtert-ブチルエステル、イソロイシンメチルエステル、イソロイシンエチルエステル、イソロイシンtert-ブチルエステル、ノルロイシンメチルエステル、ノルロイシンtert-ブチルエステル、tert-ロイシンメチルエステル、tert-ロイシンtert-ブチルエステル、2-アミノヘキサン酸メチルエステル、2-アミノヘキサン酸tert-ブチルエステルなどが挙げられる。

【0015】一般式（VII）で表される化合物〔以下、化合物（VII）と記載することもある。〕は、一般式（V）で表される化合物と化合物（VI）より、公知のペプチド合成法に準じて製造することができる。例え、液相合成法、固相合成法などのペプチド合成の常套手段

を用いることができる。さらに、化合物(VII)をアルカリまたは酸で加水分解すると、一般式(VIII)で表わされる化合物〔以下、化合物(VIII)と記載することもある。〕を製造することができる。アルカリ加水分解は、水酸化ナトリウムおよび水酸化カリウム水溶液などのアルカリ水溶液を用いるが、化合物(VII)の溶解度を増加させるためにアルカリ水溶液にメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、ジオキサンおよびテトラヒドロフランなどを添加した溶液も好適に利用できる。アルカリ加水分解物は次いで塩酸および硫酸などの無機酸で処理し遊離カルボン酸とする。反応温度は、通常、冷却下から加温下の範囲であり、好ましくは0℃～30℃の範囲である。酸加水分解の条件としては、一般に塩酸および硫酸などの無機酸を使用するが、三塩化ホウ素のようなルイス酸も使用できる。反応は酢酸、ギ酸溶液中で行うのが好ましい。反応温度は、通常室温から加温下の範囲であり、好ましくは30℃～100℃の範囲である。

【0016】化合物(VIII)またはカルボキシル基におけるその反応性誘導体またはその塩を、有機溶媒中、O-ベンジルヒドロキシルアミンと縮合させることにより、一般式(IX)で表わされる化合物〔以下、化合物(IX)と記載することもある。〕を製造することができる。化合物(VIII)のカルボキシル基における好適な反応性誘導体としては、酸ハロゲン化物、酸無水物、活性化アミド、活性化エステル等が挙げられる。酸ハロゲン化物としては酸塩化物等が挙げられ、酸無水物としては、たとえば置換されたリン酸(ジアルキルリン酸、フェニルリン酸、ジフェニルリン酸、ジベンジルリン酸、ハロゲン化リン酸等)、ジアルキル亜リン酸、亜硫酸、チオ硫酸、硫酸、スルホン酸(メタンスルホン酸等)、脂肪族カルボン酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、ピバル酸、ベンタノン酸、イソベンタノン酸、トリクロロ酢酸等)または芳香族カルボン酸(安息香酸等)のような酸との混合酸無水物または対称酸無水物等が挙げられる。活性化アミドの好適な例としては、たとえばイミダゾール、4-置換イミダゾール、ジメチルピラゾール、トリアゾールまたはテトラゾール等が挙げられる。活性化エステルの好適な例としては、たとえばシアノメチルエステル、メトキシメチルエステル、ジメチルイミノメチルエステル、ビニルエステル、プロパルギルエステル、p-ニトロフェニルエステル、トリクロロフェニルエステル、ペンタクロロフェニルエステル、メチルフェニルエステル、フェニルアゾフェニルエステル、フェニルチオエステル、p-ニトロフェニルチオエステル、p-クレジルチオエステル、カルボキシメチルチオエステル、ピラニルエステル、ピリジルエステル、8-キノリルチオエステル、またはN、N-ジメチルヒドロキシアミン、1-ヒドロキシ-2-(1H)-ピリドン、N-ヒドロキシクシンイミド、N-ヒドロキシタルイ

ミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール等のN-ヒドロキシ化合物とのエステル等が挙げられる。化合物(VIII)およびその反応性誘導体の好適な塩としては、たとえばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩、ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩、たとえばトリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ビリジン塩、ピコリン塩、エタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N、N-ジベンジルエチレンジアミン塩等の有機塩基塩等のような塩基塩が挙げられる。これら反応性誘導体は、使用する化合物(VIII)の種類によって任意に選択することができる。この反応において、化合物(VIII)を遊離の形またはその塩の形で使用する場合にはN、N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド、N-シクロヘキシル-N'-モルホリノエチルカルボジイミド、N-シクロヘキシル-N'-(4-ジエチルアミノシクロヘキシル)カルボジイミド、N、N'-ジエチルカルボジイミド、N、N'-ジイソプロピルカルボジイミド、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、N、N'-カルボニルビス(2-メチルイミダゾール)、ペンタメチレンケテン-N-シクロヘキシルイミン、ジフェニルケテニ-N-シクロヘキシルイミン、エトキシアセチレン、1-アルコキシ-1-クロロエチレン、亜リン酸トリメチル、ポリリン酸エチル、ポリリン酸イソプロピル、オキシ塩化リン、ジフェニルホスホリルアジド、塩化チオニル、塩化オキサリル、たとえば、クロロギ酸エチル、クロロギ酸イソプロピル等のハロギ酸低級アルキル、トリフェニルホスフィン、2-エチル-7-ヒドロキシベンズイソオキサゾリウム塩、2-エチル-5-(m-スルホフェニル)イソオキサゾリウムヒドロキシド分子内塩、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、1-(p-クロロベンゼンスルフオニルオキシ)-6-クロロ-1H-ベンゾトリアゾール、N、N-ジメチルホルムアミドと塩化チオニル、ホスゲン、クロロギ酸トリクロロメチル、オキシ塩化リン等との反応によって調製したいわゆるビルスマイヤー試薬等のような常用の縮合剤の存在下に反応を行うのが望ましい。縮合はアルカリ金属炭酸水素塩などの無機塩基、あるいはトリ低級アルキルアミン、ビリジン、N-低級アルキルモルホリンおよび1-ヒドロキシベンゾトリアゾールなどの有機塩基の存在下に行ってよい。1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩と1-ヒドロキシベンゾトリアゾールの組み合わせが好適である。有機溶媒としては、たとえばジクロロメタン、クロロホルム、N、N-ジメチルホルムアミドおよびテトラヒドロフランなどの慣用の溶媒あるいはそれら混合溶媒が挙げられる。好ましくは、ジクロロメタンとN、N-ジメチルホルムアミドの混合溶媒である。反応温度は、通常冷却下から加温下の範囲であ

り、好ましくは、20°C～50°Cの範囲である。

【0017】さらに化合物(IX)のベンジル基を脱保護し、再結晶またはカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物(I)を製造することができる。脱保護の方法は、還元、または酸加水分解があげられる。還元は、接触還元あるいはBirch還元(Birch, A. J.; Rao, G. Subba, *Adv. Org. Chem.*, 1972, 8, 1.)など公知の方法を利用できるが、接触還元が好ましい。接触還元の触媒はパラジウム-炭素、ラネニッケルおよび酸化白金などが挙げられる。好ましくはパラジウム-炭素である。水素圧は1気圧～50気圧であるが、好ましくは1気圧～5気圧である。溶媒としては、アルコール類(メタノール、エタノールなど)、エーテル類(テトラヒドロフランなど)、有機酸類(酢酸など)およびこれらの混合溶媒を使用できる。反応温度は通常室温から加温下の範囲である。酸加水分解の条件としては、一般に濃塩酸を使用するが、三フッ素化ホウ素のようなルイス酸も使用できる。反応温度は、通常室温から加温下の範囲であり、好ましくは30°C～100°Cの範囲である。

【0018】上記の一般反応式は本発明の化合物の合成方法を限定するものではなく、この分野で公知の他の方法を用いることもできる。また、ペプチド合成の手段は、液相合成法、固相合成法などのペプチド合成の常套手段を用いればよく、例えば、泉屋信夫他著、「ペプチド合成の基礎と実験」、丸善株式会社、1985年；矢島治明、榎原俊平著、「生化学実験講座1」、日本生化学会編、東京化学同人、1977年；木村俊也著、「続生化学実験講座1」、日本生化学会編、東京化学同人、1987年；鈴木信夫著、「第4版 実験化学講座 2 2 有機合成 IV」、日本化学会編、丸善株式会社、1992年などに記載された方法またはそれに準じた方法により製造される。

【0019】本発明の一般式(I)で表される化合物およびその塩(以下、本発明化合物と略称する場合がある。)は、文献未載の新規化合物であり、後記試験例に示すように優れたPDF阻害活性および抗菌活性を有するため、それらを有効成分とし、必要により後記の担体等を組み合わせることにより、PDF阻害剤および抗菌剤として有用である。

【0020】本発明化合物を含有する医薬は、温血動物(例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコなど)に全身的または局所的に投与される。全身的には経口投与の他、静脈内注射、皮下注射、筋肉内注射などの非経口法で投与される。局所的には皮膚、粘膜、鼻内、眼内などに投与される。ヒトに経口的に投与される製剤としては、たとえば粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、シロップ剤および液剤などが挙げられる。製剤が粉末、顆粒、錠剤などとして製造される場合、固形製剤を製造するのに好適な任意の製薬担体、た

とえば賦形剤(澱粉、ブドウ糖、果糖、白糖など)、滑沢剤(ステアリン酸マグネシウムなど)、崩壊剤(澱粉、結晶セルロースなど)、結合剤(澱粉、アラビアゴムなど)などを用いることができ、コーティング剤(ゼラチン、白糖など)でコーティングされていてもよい。また、製剤がシロップや液剤として製造される場合、たとえば安定剤(エデト酸ナトリウムなど)、懸濁化剤(アラビアゴム、カルメロースなど)、着色剤(单シロップ、ブドウ糖など)、芳香剤などを適宜に選択して使用することができる。非経口的に製造される製剤としては、注射剤、坐剤などが挙げられる。製剤が注射剤として製造される場合、たとえば溶剤(注射用蒸留水など)、安定化剤(エデト酸ナトリウムなど)、等張化剤(塩化ナトリウム、グリセリン、マンニトールなど)、pH調整剤(塩酸、クエン酸、水酸化ナトリウムなど)、懸濁化剤(メチルセルロースなど)を用いることができ、坐剤として製造される場合、たとえば坐剤基剤(カカオ脂、マクロゴールなど)などを適宜に選択して使用することができる。外用製剤としては、たとえば軟膏、クリーム剤、ローション剤、点鼻剤および点眼剤などが挙げられる。これら外用製剤には本発明化合物に加えて、たとえば軟膏基剤(ワセリン、ラノリンなど)、溶剤(生理食塩水、精製水など)、安定剤(エデト酸ナトリウム、クエン酸など)、潤滑剤(グリセリンなど)、乳化剤(ポリビニルピロリドンなど)、懸濁化剤(ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロースなど)、界面活性剤(ポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油など)、保存剤(塩化ベンザルコニウム、パラベン類、クロロブタノールなど)、緩衝剤(ホウ酸、ホウ砂、酢酸ナトリウム、クエン酸緩衝剤、リン酸緩衝剤など)、等張化剤(塩化ナトリウム、グリセリン、マンニトールなど)、pH調整剤(塩酸、水酸化ナトリウムなど)などの製薬学的添加剤、賦形剤、溶剤などを適宜に選択して使用することができる。

【0021】本発明化合物の投与量は対象となる疾患、症状、投与対象、投与方法などにより異なるが、成人の感染症に使用する場合、1回あたりの投与量は、経口投与では通常1～1000mg、好ましくは10～200mgを1日1～4回、注射剤では通常0.1～100mg、好ましくは1～50mgを1日1～4回である。また、成人の眼感染症に局所的に使用する場合は、通常本発明化合物を0.001～1.0w/v%、好ましくは0.01～0.5w/v%含有する点眼液を、1回20～50μL、1日1～6回点眼するのがよい。

【0022】本発明の製剤には、本発明の目的に反しない限り、その他の抗菌成分および/または別種の薬効成分を適宜含有させてもよい。

【0023】

【実施例】本発明を以下の実施例、試験例および製剤例に従いさらに詳細に説明するが、本発明はこれらにより

何ら限定されるものではない。

【0024】実施例 N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシンヒドロキサム酸工程1) L-バリン(4.7g, 4.00mmol)を1M水酸化ナトリウム水溶液4.00mLに溶解し、さらに精製水6.00mLを加え、氷冷下で攪拌しながら、4-フルオロベンゼンスルホニルクロリド(7.8g, 4.00mmol)のテトラヒドロフラン溶液4.00mLと1M水酸化ナトリウム水溶液4.00mLを同時に滴下した。この溶液を室温で18時間攪拌した。反応終了後、反応液を塩酸でpH3に調整して酢酸エチルで抽出した。有機層を2N-塩酸、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。溶媒を減圧留去して、残渣無色油状物をヘキサンから結晶化して、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン(7.7g, 70%)を得た。

【0025】工程2) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン(6.7g, 2.40mmol)とN-ヒドロキシコハク酸イミド(3.6g, 3.20mmol)をテトラヒドロフラン7.00mLに溶解し、氷冷下で攪拌しながら、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(6.1g, 3.20mmol)のジクロロメタン溶液を加えた。この溶液を室温で18時間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルに溶解し、2N-塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル-ヘキサン混液(1:10v/v)で洗浄し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン-N-ヒドロキシコハク酸イミドエステル(8.2g, 90%)を白色結晶として得た。

<sup>1</sup>H-NMRスペクトル(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.87 (d, 3H, J=6.9Hz), 0.90 (d, 3H, J=6.9Hz), 2.03-2.14 (m, 1H), 2.77 (s, 4H), 4.10-4.15 (m, 1H), 7.33-7.40 (m, 2H), 7.82-7.88 (m, 2H), 8.66 (d, 1H, J=9.0Hz)。

【0026】工程3) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン-N-ヒドロキシコハク酸イミドエステル(1.5g, 4.00mmol)とL-ロイシンエチルエステル塩酸塩(1.0g, 5.2mmol)をジクロロメタン1.50mLに溶解し、トリエチルアミン(1.2g, 1.20mmol)を加えた。この溶液を室温で18時間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルに溶解し、2N-塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル-ヘキサン混液(1:1 v/v)で洗浄し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシンエチルエステル(1.4g, 83%)を白色結晶として得た。

融点: 110-111°C

<sup>1</sup>H-NMRスペクトル(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.68 (d, 3H, J=6.1Hz), 0.79 (d, 3H, J=6.7Hz), 0.80 (d, 3H, J=6.1Hz), 0.85 (d, 3H, J=6.7Hz), 1.11 (t, 3H, J=7.1Hz), 1.19-1.33 (m, 3H), 1.77-1.88 (m, 1H), 3.52-3.57 (m, 1H), 3.84-3.91 (m, 1H), 3.95-4.05 (m, 2H), 7.31-7.39 (m, 2H), 7.75-7.82 (m, 2H), 7.88 (d, 1H, J=9.3Hz), 8.17 (d, 1H, J=7.3Hz)。Anal. Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: C, 54.65; H, 7.15; N, 6.75.

【0027】工程4) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシンエチルエステル(1.2g, 2.9mmol)をエタノール3.00mLに溶解し、水酸化ナトリウム(3.5g, 8.6mmol)水溶液2.00mLを加えた。この溶液を氷冷下で5時間攪拌した。反応終了後、反応液を塩酸でpH7に調整し、溶媒を減圧留去して酢酸エチルで抽出した。有機層を2N-塩酸、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルから再結晶してN-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシン(8.2g, 73%)を白色結晶として得た。

融点: 171-172°C

<sup>1</sup>H-NMRスペクトル(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.67 (d, 3H, J=6.1Hz), 0.78 (d, 3H, J=6.7Hz), 0.79 (d, 3H, J=6.1Hz), 0.84 (d, 3H, J=6.7Hz), 1.22-1.34 (m, 3H), 1.77-1.88 (m, 1H), 3.52-3.58 (m, 1H), 3.81-3.89 (m, 1H), 7.30-7.36 (m, 2H), 7.76-7.84 (m, 3H), 8.05 (d, 1H, J=7.6Hz), 12.44 (s, 1H)。

Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: C, 52.57; H, 6.48; N, 7.21. Found: C, 52.40; H, 6.55; N, 7.13.

【0028】工程5) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシン(0.50g, 1.29mmol)、O-ベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩(0.62g, 3.86mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(0.17g, 1.29mmol)およびN-メチルモルホリン(0.65g, 6.44mmol)をジクロロメタン2.0mLに溶解し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(0.32g, 1.67mmol)を加えて、室温で終夜攪拌した。反応終了後、反応液にジクロロメタン5.0mLと水2.0mLを加えて分配した。有機層を1N-水酸化ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥した。無機物を沪去した後、溶媒を減圧留去して、無色固体を得た。カラムクロマトグラフィー[Silica gel Merck-60 (70-230メッシュ)、酢酸エチル-ヘキサン混液(1:2 v/v)]で精製し、N-(4

ーフルオロフェニルスルホニル) -L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸ベンジルエステル (O, 4.2 g, 6.6, 1%) を無色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMRスペクトル (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 0.67 (d, 3H, J=5.7Hz), 0.74-0.80 (m, 9H), 1.05-1.20 (m, 3H), 1.77 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.84 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 7.29-7.36 (m, 7H), 7.77-7.81 (m, 3H), 8.01 (d, 1H, J=7.8Hz), 11.21 (s, 1H).

【0029】工程6) N-(4-フルオロフェニルスルホニル) -L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸ベンジルエステル (O, 4.0 g, 0.81 mmol) をテトラヒドロフラン 20 mL に溶解し、10%パラジウム-炭素 O, 0.4 g を窒素雰囲気下で慎重に加えた。水素気流下、室温常圧で水素の吸収が止まるまで攪拌した。反応終了後、触媒を沪去し、溶媒を減圧留去した。残渣に酢酸エチル 50 mL を加えて、1N-水酸化ナトリウム水溶液で抽出した。抽出液を 1N-塩酸で酸性とし、酢酸エチル 100 mL で再度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥した。無機物を沪去した後、溶媒を減圧留去し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル) -L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸 (O, 3.2 g, 98.2%) を無色固体として得た。酢酸エチル 5 mL から再結晶し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル) -L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸 (化合物1) を無色結晶として得た。

融点: 142.2-142.9°C

<sup>1</sup>H-NMRスペクトル (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 0.69 (d, 3H, J=5.4Hz), 0.74-0.79 (m, 9H), 1.07-1.21 (m, 3H), 1.76 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.89 (m, 1H), 7.29-7.35 (m, 2H), 7.73-7.81 (m, 3H), 7.95 (d, 1H, J=8.4Hz), 8.80 (s, 1H), 10.59 (br s, 1H).

Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S: C, 50.61; H, 6.49; N, 10.41. Found: C, 50.89; H, 6.58; N, 10.40.

#### 【0030】試験例1

試験管内における大腸菌由来 Ni-PDF 阻害活性の測定を Lazennec らの方法 (Lazennec, C. and Meinnel, T., Anal. Biochem., 244, 1997, 180-182.) に準じて行った。なお、Ni-PDF の単離精製は、Chen らの方法 (Chen, Dawn Z.; Patel, Dinesh V.; Hackbarth, Corinne J.; Wang, Wen; Dreyer, Geoffrey; Young, Dennis C.; Margolis, Peter S.; Wu, Charlotte; Ni, Zi-Jie; Trias, Joaquim; White, Richard J.; Yuan, Zhengyu, Biochemistry, 39, 2000, 1256-62.) に準じて行った。50 mM の N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸 (HEP

ES, pH 7.2)、1.0 mM の塩化ナトリウム、O, 2 mg/mL の牛血清アルブミン (BSA) の緩衝溶液 (90 μL) にジメチルスルホキシドに溶解した化合物 1 (1.0 μL) と Ni-PDF (O, 0.21 U/mg, 1.0 μL) を添加し、室温で 10 分間インキュベーションした。そこに、O, 0.21 U/mg のホルメートデヒドロゲナーゼ (FDH)、1 mM の酸化型ペータニコチニアミドアデニジヌクレオチド (β-NAD<sup>+</sup>) O, 6 mM、O, 1 mM ホルミルメチオニンアラニンセリン (fMAS) の混合溶液 (90 μL) を加え 20 分間反応させた後、340 nm における吸光度減少の値 (A) を測定した。化合物 1 を含まない反応液と Ni-PDF を含まない反応液をそれぞれ同時に同じ条件下で測定した吸光度減少の値 (B, C) を下記の式にあてはめ、種々の濃度における化合物 1 の阻害率 (%) を算出した。

$$\text{阻害率 (\%)} = (1 - (A - C) / (B - C)) \times 100$$

A: Ni-PDF および化合物 1 を含む反応液の 340 nm における吸光度減少の値

B: 化合物 1 を含まない反応液の 340 nm における吸光度減少の値

C: Ni-PDF を含まない反応液の 340 nm における吸光度減少の値

さらに、サンプル中の化合物 1 の濃度との関係を対数グラフにプロットし、50% 阻害に必要な量 (IC<sub>50</sub>) を求めた。

#### 【0031】試験結果1

その結果を表1に示す。

#### 【0032】

【表1】

被試験薬	IC <sub>50</sub> (μM)
化合物 1	0.857

#### 【0033】試験例2

抗菌活性の測定を、日本化学会の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (Chemotherapy 1981, 29 (1), 76-79.) に準じて行った。即ち、化合物 1 をそれぞれ 1.0, 5.0, 2.5, 1.2, 0.5, 0.25, 0.13, 0.06, 0.03, 0.015, 0.0075 μg/mL となるように添加したミューラーヒントン寒天平板培地 1.0 mL に、1.0<sup>6</sup> または 1.0<sup>8</sup> CFU/mL に調製した被検菌液を接種し、約 37°C で 18-20 時間培養後、観察を行った。なお、化合物 1 の溶解にはジメチルスルホキシドを使用した。

#### 【0034】試験結果2

その結果を表2に示す。

#### 【0035】

【表2】

菌株	濃度 (CFU/mL)	化合物1のMIC(μg/mL)
<i>S. aureus</i> <sup>a</sup>	10 <sup>8</sup>	>100
	10 <sup>6</sup>	>100
<i>E. coli</i> <sup>b</sup>	10 <sup>8</sup>	50
	10 <sup>6</sup>	50

a : *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

b : *Escherichia coli* (ATCC 8739).

【0036】製剤例1	錠剤	化合物1	50mg
化合物1	100mg	ホウ酸	700mg
乳糖	80mg	ホウ砂	適量
デンプン	17mg	塩化ナトリウム	500mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg	ヒドロキシメチルセルロース	0.5g
以上の成分を1錠分の材料として、常法により錠剤を成形する。必要に応じて糖衣を付してもよい。		エデト酸ナトリウム	0.05mg
【0037】製剤例2 注射剤		塩化ベンザルコニウム	0.005mg
化合物1	100mg	滅菌精製水	全量 100mL
塩化ナトリウム	900mg	以上の成分を常法により混和して点眼剤とする。	
1N-水酸化ナトリウム	適量	【0039】	
注射用蒸留水	全量 100mL	【発明の効果】	本発明の一般式(1)で表される化合物およびその塩は、優れたPDE阻害作用および抗菌作用を有しているため、PDE阻害剤および抗菌剤として用いることができる。
以上の成分を常法により混和して注射剤とする。			
【0038】製剤例3 点眼剤			

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C084 AA03 AA07 BA14 CA59 MA35  
 MA66 NA14 ZB35 ZC20  
 4H045 AA10 AA30 BA11 DA55 EA29  
 FA31 FA51 GA40 HA32

